

FICHE TECHNIQUE

GELOSE DE WILSON BLAIR MODIFIEE

Réf. BK004HA

1 DOMAINE D'UTILISATION

La **gélose de Wilson-blair modifiée** est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement de *Salmonella* Typhi et des autres salmonelles dans les produits pathologiques d'origine animale, les eaux, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.
La **gélose de Wilson-Blair modifiée** peut être utilisée dans les méthodes normalisées pour la recherche de *Salmonella*, comme second milieu d'isolement.

2 HISTORIQUE

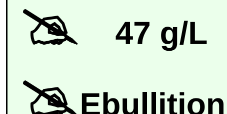
En 1926, Wilson et Blair utilisèrent l'association du bismuth et du sulfite de sodium dans un milieu destiné à l'isolement des *Salmonella* des groupes Typhi et Paratyphi. Puis en 1956, Hajna et Damon décrivirent une formule modifiée qui a été recommandée dans la Pharmacopée américaine.

3 PRINCIPES

- Les concentrations en vert brillant et sulfite de bismuth provoquent l'inhibition de la flore secondaire à Gram-positif et de la plupart des entérobactéries à l'exception des *Salmonella* et de quelques *Shigella*.
- A partir des composés soufrés du milieu, les *Salmonella* dégagent du sulfure d'hydrogène qui produit en présence de sulfate ferreux un précipité métallique conférant aux colonies une couleur noire ou parfois verte.
- Il est particulièrement recommandé de réaliser au préalable un enrichissement sur un milieu au tétrathionate, sur un bouillon au sélénite ou sur un bouillon de Rappaport-Vassiliadis et d'ensemencer simultanément d'autres milieux moins sélectifs : gélose de MacConkey, gélose XLD ou gélose Hektoen.
- En raison de son pouvoir inhibiteur élevé, ce milieu permet la mise en œuvre d'un inoculum fortement contaminé.

4 PREPARATION

- Mettre en suspension 47,0 g de milieu déshydraté (BK004) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Ne pas autoclaver.



Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

5 MODE D'EMPLOI

- Refroidir et maintenir le milieu à 47°C.
- Homogénéiser le milieu de façon à disperser le précipité.
- Couler en boîtes de Petri stériles à raison de 20 mL par boîte.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer en stries l'inoculum dans les boîtes, à partir des milieux d'enrichissement utilisés.
- Incuber à 37°C pendant 24 et 48 heures.

En surface

Incubation
24 et 48 h à 37°C

NOTE :
Aussitôt après sa préparation, le milieu présente une sélectivité optimale qui diminue graduellement au cours du temps. C'est la raison pour laquelle il est déconseillé de conserver le milieu prêt-à- l'emploi plus de 4 jours à 2-8°C.

6 LECTURES

L'aspect des colonies est le suivant :

- colonies noires, plates, sèches entourées d'une zone brun noir avec reflet métallique habituellement présent : *Salmonella* Typhi.
- colonies vertes ou brunâtres sans zones : *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* Paratyphi, *Shigella*.



Les coliformes, les *Proteus* et les *Shigella* sont fortement inhibés, mais peuvent parfois donner des colonies verdâtres ou brunâtres.

7 FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone...5,00 g
- Peptone pepsique de viande ....5,00 g
- Extrait de viande ....5,00 g
- Glucose...5,00 g
- Phosphate disodique ....4,00 g
- Sulfate ferreux...0,30 g
- Citrate de bismuth ammoniacal...1,85 g
- Sulfite de sodium ....6,15 g
- Vert brillant...25,0 mg
- Agar agar bactériologique...14,70 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

8 CONTROLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre beige à verdâtre, fluide et homogène.
- Milieu préparé en boîtes : gélose jaune vert.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

- Réponse culturale typique après 48 heures d'incubation à 37°C :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
Salmonella Typhimurium	WDCM 00031	bonne, score 2	colonies noires, à reflets métalliques
Salmonella Enteritidis	WDCM 00030	bonne, score 2	colonies verdâtres à brunâtres
Shigella sonnei	WDCM 00127	partiellement inhibée, score 0-1	colonies verdâtres
Enterococcus faecalis	WDCM 00087	inhibée, score 0	
Staphylococcus aureus	WDCM 00034	inhibée, score 0	

9 STOCKAGE - CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30°C.

- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé (à titre indicatif) : 4 jours à 2-8°C

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

- Flacon de 500 g BK004HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Wilson, J.W., and Blair, E.M. 1931. Further experience of the Bismuth Sulphite Media in the isolation of *Bacillus typhosus* and *Bacillus paratyphosus* B from faeces, sewage and water. J. Hyg., 31: 138.

Wilson, J.W. 1938. Isolation of *Bact. typhosum* by means Bismuth Sulphite Medium in water and milk born epidemies. J.Hyg., 38: 507-519.

United States Pharmacopeia. Microbial Limit Tests.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK004/F/2001-04 : 6.
Date création : 04/2001
Dernière mise à jour : 15/11/2011



Motif de la révision : **Remaniement général**

Corrections § 8 : référence WDCM des souches de contrôle

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr